

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**

(11)Publication number : 08-099888

(43)Date of publication of application : 16.04.1996

(51)Int.Cl.

A61K 35/74  
A61K 35/74  
A61K 35/74  
A23L 2/52  
// C12N 1/20  
(C12N 1/20  
C12R 1:23  
C12R 1:01 )

(21)Application number : 06-261031

(71)Applicant : SNOW BRAND MILK PROD CO LTD

(22)Date of filing : 30.09.1994

(72)Inventor : ODA HIROSHI  
AKAI YOSHIHITO  
TOYODA SHUJI  
HASHIBA EN

**(54) GLUTATHIONE PEROXIDASE ACTIVATOR**

(57)Abstract:

**PURPOSE:** To obtain an activator for a glutathione peroxidase having effects on effective scavenging of hydrogen peroxide in the living body.

**CONSTITUTION:** This glutathione peroxidase activator is obtained by using a culture supernatant of *Bifidobacterium longum* or *Lactobacillus acidophilus* as an active ingredient thereof. Since the glutathione peroxidase activator has effects on removal of hydrogen peroxide in the living body, preventing effects on the production and accumulation of peroxylipids considered as a causative substance for senescence, tumor, circulatory diseases, various hepatopathies, etc., can be expected. Furthermore, synergistic effects can be expected due to the activation of catalase and superoxide dismutase having similar effects, on the removal of the hydrogen peroxide.

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-99888

(43)公開日 平成8年(1996)4月16日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/74	A E D G	7431-4C		
	A D D	7431-4C		
	A G Z	7431-4C		
A 2 3 L 2/52				
		A 2 3 L 2/ 00	F	
審査請求 未請求 請求項の数1 F D (全 6 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号 特願平6-261031

(22)出願日 平成6年(1994)9月30日

(71)出願人 000006699

雪印乳業株式会社

北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号

(72)発明者 小田 泰士

東京都練馬区関町東1-19-11-202

(72)発明者 赤井 義仁

埼玉県川越市新宿町5-11-3

(72)発明者 豊田 修次

埼玉県所沢市緑町3-12-5-202

(72)発明者 橋場 炎

埼玉県川越市南台2-11-8 A304

(54)【発明の名称】 グルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤

(57)【要約】

【目的】 生体内の過酸化水素を効果的に消去する効果を有するグルタチオンペルオキシダーゼの活性化剤を提供する。

【構成】 グルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤の有効成分として、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の培養上清を用いる。

【効果】 このグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤は、生体内で過酸化水素を除去する効果を有するので、老化、腫瘍、循環器系疾患、各種肝疾患などの原因と物質と考えられている過酸化脂質の生成及び蓄積を防止する効果が期待できる。また、同様の過酸化水素除去効果を有するカタラーゼ及びスーパーオキシド・ディスムターゼを活性化するので、相乗効果も期待できる。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 乳酸菌のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の培養上清を有効成分とするグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)またはビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)の培養上清を有効成分として含有するグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤に関する。本発明のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤は、生体内で過酸化水素を効果的に消去するので、生体内における過酸化脂質の生成と蓄積による老化、腫瘍、循環器系疾患、各種肝疾患などの予防効果が期待される。

【0002】

【従来の技術】近年、生体内における過酸化脂質の生成と蓄積が、皺、老人性色素、老眼、老人性白内障、白髪発生、健忘症、痴呆症、老衰などのヒトの老化や動脈硬化症、心筋症、脳血栓症などの循環器系疾患、あるいは各種肝疾患や腫瘍などの発症に影響を及ぼしていることが報告されており、これらの治療や予防を目的として、生体内過酸化脂質の生成を抑制する方法が検討されている。

【0003】従来、生体内の過酸化脂質抑制剤としては、ビタミンE、ビタミンC、ビタミンA、尿酸などのラジカル消去剤やカタラーゼ、ペルオキシダーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼなどの酵素剤が知られているが、直接生体内で脂質の過酸化反応を防御する物質としては、ラジカル消去剤であるビタミンEが用いられているのみである。このビタミンEは、生体内で優れた過酸化脂質抑制効果を示すが、脂溶性であり水に難溶性であって適用範囲が制限されるという問題がある。

【0004】一方、微生物菌体、菌体培養物、菌体抽出物などの酸化抑制効果を利用し、化粧品、医薬品、食品、飼料などの保存性を向上させることを意図した抗酸化剤が提案されている〔特開昭58-198584号公報、特開平2-117349号公報、特開平2-210490号公報、特開平5-276912号公報〕。また、生体内過酸化脂質抑制剤としては、ストレプトコッカス・ラクチス・リスター(*Streptococcus lactis lister*)菌体消化物の抗酸化作用を利用した乳酸菌調製物を有効成分とするもの〔特開平3-4768号公報〕やラクトバチルス・ラムノーサス(*Lactobacillus rhamnosus*)、ラクトバチルス・カゼイ・サブスピーシーズ・ブソイドプランタルム(*Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplanatarum*)、ラクトバチルス・デルブルッキー・サブスピーシーズ・ブルガリカス(*Lac*

2

*tobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)、ラクトバチルス・ブヒネリ(*Lactobacillus buchneri*)、ラクトバチルス・ファーメンタム(*Lactobacillus fermentum*)の菌体及び/または菌体親水性溶媒抽出物を有効成分とするもの〔特開平4-264034号公報〕などが提案されている。しかし、これらの乳酸菌を利用した生体内過酸化脂質抑制剤を製造する際には、多くの工程を経て有効成分を分離、精製する必要があり、コストの面で問題があった。

【0005】ところで、生体内で脂質の過酸化に関与する物質として、過酸化水素が知られている。この過酸化水素には、直接脂質を酸化する作用は無いが、ペルオキシダーゼの基質となって有機物を酸化するか、あるいは1電子還元を受けてヒドロキシラジカルとなって強力な酸化作用を発揮する。この過酸化水素を分解する酵素として、グルタチオンペルオキシダーゼとカタラーゼが知られている。そして、このグルタチオンペルオキシダーゼやカタラーゼの活性が生体内で高まっていればいる程、生体内で過酸化脂質が生成し難いと考えられている。特に、グルタチオンペルオキシダーゼは、カタラーゼに比べて過酸化水素に対するKm値が非常に小さいことから、生体内の過酸化水素を効果的に消去することができる酵素であるといえる。

【0006】なお、グルタチオンペルオキシダーゼ活性の低下に起因する疾患としては、グルタチオン還元酵素が先天的に欠損している疾患、グルコース-6-リン酸脱水素酵素が赤血球中に先天的に欠損している疾患、γ-グルタミル回路の中のグルタチオン合成酵素やγ-グルタミルシステイン合成酵素が先天的に欠損している疾患などが知られており、赤血球中で生じた過酸化水素を十分処理できず、溶血性貧血の症状を呈することもある。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、生体内の過酸化水素を効果的に消去することができる酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼを活性化する物質について、鋭意研究を重ねてきたところ、従来より発酵食品などを製造する際に用いられている乳酸菌のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の培養上清に、強力なグルタチオンペルオキシダーゼ活性化作用を見出し、本発明を完成するに至った。したがって、本発明は、乳酸菌のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の培養上清を有効成分として含有するグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤を提供することを課題とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明では、培養上清を得るための乳酸菌として、ビフィドバクテリウム・ロン

3

ガム(*Bifidobacterium longum*) またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)を用いる。本発明のグルタチオンペルオキシダーゼを活性化する培養上清を産生する菌株としては、常法に従って乳児の糞便から分離して得られたビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT2928 (FERM P-10657) 及び SBT 2933R (FERM P-8743) または常法に従って発酵乳から分離して得られたラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*) SBT 2062 (FERM P-10730) を例示することができる。

【0009】ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び SBT 2933R (FERM P-8743) の菌学的性質は、以下の通りである。

【0010】A 形態的性状

- |             |    |
|-------------|----|
| (1) 細胞の形:   | 桿菌 |
| (2) 運動性:    | なし |
| (3) 胞子の有無:  | なし |
| (4) グラム染色性: | 陽性 |

【0011】B 培地上の生育状態

(1) ブリックス・リバーブロス培養で旺盛に生育 (37℃で16~24時間培養)

(2) GAM寒天培養で旺盛に生育し、直径2mm前後の白色、偏平なコロニーを形成 (嫌気条件下、37℃で16~24時間培養)

【0012】C 生理学的性質

- |                                     |       |
|-------------------------------------|-------|
| (1) 硝酸塩の還元:                         | 陰性    |
| (2) メチルレッドテスト:                      | 陰性    |
| (3) インドールの生成:                       | 陰性    |
| (4) 硫化水素の生成:                        | 陰性    |
| (5) でんぶんの加水分解:                      | 陰性    |
| (6) 色素の生成:                          | 陰性    |
| (7) ウレアーゼ:                          | 陰性    |
| (8) オキシダーゼ:                         | 陰性    |
| (9) カタラーゼ:                          | 陰性    |
| (10) 酸素に対する態度:                      | 偏性嫌気性 |
| (11) 酵母エキス添加リトマス牛乳に培養すると酸を生成し、凝乳する。 |       |

(12) 生育範囲: 15℃では生育せず、22℃~45℃で生育し、生育至適温度は35℃~38℃である。また、pH 6.0~7.0 で生育する。

(13) 各種炭水化物の分解性

- |            |   |
|------------|---|
| 1. アラビノース  | + |
| 2. キシロース   | + |
| 3. グルコース   | + |
| 4. フラクトース  | + |
| 5. マンノース   | + |
| 6. ガラクトース  | + |
| 7. シュークロース | + |
| 8. マルトース   | + |

4

- |            |   |
|------------|---|
| 9. ラクトース   | + |
| 10. トレハロース | - |
| 11. ソルビット  | - |
| 12. マンニット  | - |
| 13. イノシット  | - |
| 14. デンプン   | - |

【0013】その他、リボース、メリビオース、ラフィノース、メレチトースを分解し、セルビオース、グリコゲン、イヌリンを分解しない。

10 【0014】上記の菌学的性質から、Bergey's manual of systematic bacteriology, vol.2 (1986)により同定すると、SBT 2928 (FERM P-10657) 及び SBT 2933R (FERM P-8743) は、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) の菌学的性質と一致した。

【0015】また、ラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*) SBT 2062 (FERM P-10730) の菌学的性質は、以下の通りである。

【0016】A 形態的性状

- |             |    |
|-------------|----|
| (1) 細胞の形:   | 桿菌 |
| (2) 運動性:    | なし |
| (3) 胞子の有無:  | なし |
| (4) グラム染色性: | 陽性 |

【0017】B 培地上の生育状態

(1) ブリックス・リバーブロス培養で旺盛に生育 (37℃で16~24時間培養)

(2) MRS寒天培養で旺盛に生育し、直径2mm前後の白色または灰白色のコロニーを形成 (好気または嫌気条件下、37℃で24~48時間培養)

【0018】C 生理的性質

- |                 |    |
|-----------------|----|
| 30 (1) 硝酸塩の還元:  | 陰性 |
| (2) メチルレッドテスト:  | 陰性 |
| (3) インドールの生成:   | 陰性 |
| (4) 硫化水素の生成:    | 陰性 |
| (5) でんぶんの加水分解:  | 陽性 |
| (6) 色素の生成:      | 陰性 |
| (7) ウレアーゼ:      | 陰性 |
| (8) オキシダーゼ:     | 陽性 |
| (9) カタラーゼ:      | 陰性 |
| (10) 酸素に対する態度:  | 陽性 |
| 40 (11) 乳酸の旋光性: | DL |

(12) 生育範囲: 15℃で生育する

(13) 各種炭水化物の分解性

- |              |   |
|--------------|---|
| 1. アラビノース    | - |
| 2. キシロース     | - |
| 3. ラムノース     | - |
| 4. リボース      | - |
| 5. グルコース     | + |
| 6. マンノース     | + |
| 7. フラクトース    | + |
| 50 8. ガラクトース | + |

5

9. シュークロース	+
10. マルトース	+
11. セルビオース	+
12. ラクトース	+
13. トレハロース	+
14. メリビオース	-
15. ラフィノース	-
16. メレチトース	-
17. マンニトール	-
18. ソルビトール	-
19. エスクリン	+
20. サリシン	+
21. アミグダリン	+

【0019】上記の菌学的性質から、Bergey's manual of systematic bacteriology, vol.2 (1986)により同定すると、SBT 2062 (FERM P-10730) は、ラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の菌学的性質と一致した。

【0020】上記のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)について、培養基として乳培地または乳成分を含む培地を用い、通常の乳酸菌を培養する方法に従って培養した後、遠心分離などの操作によって培養上清を回収する。そして、本発明では、この培養上清をグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤の有効成分として用いる。また、この培養上清は、必要に応じて、凍結乾燥、噴霧乾燥、加熱乾燥などの処理を行い、粉末状にして用いることもできる。

【0021】本発明のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤を投与するに際しては、有効成分であるビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の培養上清をそのままの状態で用いることもできるが、常法に従って、粉剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤など製剤化して用いることもできる。さらには、このグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤を各種栄養剤や清涼飲料水、果汁飲料、発酵飲料、ゼリー、アイスクリームなどの飲食品類、ガムやキャンディーなどの菓子類に配合して用いることもできる。

【0022】本発明のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤の投与量は、液状の培養上清であれば成人一日当たり 50g~500gであり、乾燥粉末の培養上清であれば成人一日当たり5g~50gである。この必要量を一日一回から数回の摂取で確保できるよう飲食品類に配合したり、医薬として服用すればよい。

【0023】次に、実施例を示して本発明を詳細に説明する。

【参考例1】酵母エキス 0.5重量%を含む無脂乳固形分12重量%の脱脂乳培地 4,000mlに、同培地で予め培養したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium*

6

*longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及びビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2933 R (FERM P-8743) を各 2.5重量%ずつ接種し、37℃で16時間培養した後、5,000rpmで20分間の遠心分離を行って培養上清を回収し、凍結乾燥して培養上清粉末200gを得た。

【0024】

【参考例2】酵母エキス 0.5重量%を含む無脂乳固形分12重量%の脱脂乳培地 4,000mlに、同培地で予め培養したラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*) SBT 2062 (FERM P-10730)を5重量%接種し、37℃で16時間培養した後、5,000rpmで20分間の遠心分離を行って培養上清を回収し、凍結乾燥して培養上清粉末200gを得た。

【0025】

【試験例1】参考例1及び2で得られた培養上清粉末を用いて動物実験を行った。

実験動物の飼育

6週齢のSD系雄ラット18匹を1群6匹で、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)の培養上清粉末投与群(A群)、ラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*) (B群)及び対照群(C群)の3群に分け、表1に示した試験飼料を5週間摂取させた。なお、ビタミン混合及び塩類混合は、AIN-76組成 [Journal of Nutrition, vol.107, pp.1340-1348, 1977] に準じて調製した。また、5週間の飼育期間中、各群共に体重の増加量及び飼料の摂取量に有意差は認められなかった。

【0026】

【表1】

	A及びB群	C群
培養上清粉末	10	— (重量%)
ホエー粉	—	10
カゼイン	18.75	18.75
サフラワー油	10	10
ビタミン混合	1	1
塩類混合	3.5	3.5
重酒石酸コリン	0.2	0.2
D,Lメチオニン	0.3	0.3
セルロース	5	5
αコーンスターチ	15	15
乳糖	2.5	—
ショ糖	33.75	36.25

【0027】5週間飼育したラットをエーテル麻酔下にて屠殺し、後部大動脈から血液を採取して各試験に供した。また、肝臓を摘出し、その重量を測定した。

【0028】赤血球の調製

7

ラットから採取した血液をヘパリン処理した後、4℃で3,000rpm、10分間の遠心分離を行い血漿と血べいを分離した。血漿を回収した後、血べいのパフィ・コートパスツール・ピペットにて除去し、残りを赤血球画分とした。この赤血球画分に4倍体積量の生理食塩水を添加し、赤血球膜を壊さないよう十分攪拌した後、4℃で3,000rpm、10分間の遠心分離を行い上層を除去した。この操作を3回繰り返して赤血球を洗浄した後、この赤血球に4倍体積量の蒸留水を添加して赤血球を溶血させて溶血液とした。

#### 【0029】肝臓抽出液の調製

ラットから摘出した肝臓を正確に1g採取し、50mMリン酸緩衝液(pH 7.0)10mlを加えてホモジェネートし、抽出液を濾別、回収した。また、抽出残渣に同緩衝液3mlを加えてホモジェネートし、抽出液を濾別、回収した。この操作を1回繰り返して抽出液を回収した後、同緩衝液を加えて全量を20mlとし、この抽出液を同緩衝液にて10倍に希釈したものを肝臓抽出液とした。

#### 【0030】血漿リポタンパク質画分の調製

ラットから採取した血液を分離して回収した血漿にエチレンジアミン四酢酸・ニナトリウムを最終濃度1mg/mlとなるよう添加し、溶解した。この血漿 500μlを比重 1.063g/mlの臭化カリウム溶液 500μlに重層し、10℃で105,000×g、18時間の超遠心分離を行い上層を回収した。そして、この回収液を0.9%塩化ナトリウムと0.1μMエチレンジアミン四酢酸・ニナトリウムを含む10mMリン酸緩衝液(pH 7.0)にて透析し、血漿リポタンパク質画分とした。なお、この血漿リポタンパク質画分には、超低比重リポタンパク質及び低比重リポタンパク質が含まれている。

#### 【0031】溶血液のヘモグロビン濃度測定

前記の溶血液20μlに35mMラウリル硫酸ナトリウムを含む6.7mMリン酸緩衝液(pH 7.2)5mlを添加、混合し、常温にて5分間放置後、540nmの吸光度を測定した。この吸光度と標準に用いた馬赤血球標準液(ヘモグロビン濃度150g/l)の吸光度から、この溶血液のヘモグロビン濃度(mg/100μl)を算出した。

#### 【0032】赤血球のグルタチオンペルオキシダーゼ活性測定

前記の溶血液 100μlに、50mMリン酸緩衝液(pH 7.0)、1mMエチレンジアミン四酢酸、1mMアジ化ナトリウム、0.2mM還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸、1mM還元型グルタチオン及び1EU/ml酸化型グルタチオンレダクターゼを含む反応液 800μlを添加、混合し、常温にて5分間放置後、1.5mMクミンヒドロペルオキシド溶液 100μlを加えて、340nmの吸光度の5分間の変化を記録した。そして、赤血球のグルタチオンペルオキシダーゼ活性は、次式1により算出した。

【0033】

【式1】

8

【0034】表2に各群の赤血球のグルタチオンペルオキシダーゼ活性の平均値を示す。

【0035】

【表2】

#### 【0036】赤血球のカタラーゼ活性測定

12.5mM過酸化水素を含む1/15Mリン酸緩衝液(pH 7.0)3mlを吸光度測定用石英セルに添加し、さらに、前記の溶血液40μlを添加、混合した後、240nmの吸光度が0.450から0.400に減少する時間を測定した。そして、赤血球のカタラーゼ活性は、次式2により算出した。

【0037】

【式2】

【0038】表3に各群の赤血球のカタラーゼ活性の平均値を示す。

【0039】

【表3】

#### 【0040】肝臓のカタラーゼ活性測定

12.5mM過酸化水素を含む1/15Mリン酸緩衝液(pH 7.0)3mlを吸光度測定用石英セルに添加し、さらに、前記の肝臓抽出液0.01mlを添加、混合した後、240nmの吸光度が0.450から0.400に減少する時間を測定した。そして、肝臓のカタラーゼ活性は、次式3により算出した。

【0041】

【式3】

【0042】表4に各群の肝臓のカタラーゼ活性の平均値を示す。

【0043】

【表4】

#### 【0044】赤血球のスーパーオキシド・ディスムターゼ活性測定

前記の溶血液2mlに冷却したエタノール1ml及びククロホルム0.6mlを添加して15分間振とう抽出した後、蒸留水0.4mlを添加、混合し、3,000rpm、10分間の遠心分離を行って上清を回収した。この上清に蒸留水を加えて全量2mlとし、スーパーオキシド・ディスムターゼ活性の測定に供した。

【0045】0.013mMリボフラビンを含む0.01Mリン酸緩衝液(pH 7.5)850μlを吸光度測定用石英セルに添加し、さらに、前記の上清50μl及び2mMジアニジジン液100μlを添加、混合し、分光光度計の20W蛍光ランプを5分間照射した後、460nmの吸光度を測定した。そして、赤血球のスーパーオキシド・ディスムターゼ活性は、この吸光度と標準に用いた牛赤血球の溶血液(スーパーオキシド・ディスムターゼ活性3,000U/ml)の吸光度から、次式4により算出した。

【0046】

【式4】

【0047】表5に各群の赤血球のスーパーオキシド・ディスムターゼ活性の平均値を示す。

【0048】

## 【表5】

## 【0049】血漿リポタンパク質画分の過酸化脂質量測定

前記の血漿リポタンパク質画分 100 $\mu$ l に、12mMアスコルビン酸溶液10 $\mu$ l 及び 1.2mM硫酸第一鉄・7水和物溶液10 $\mu$ l を添加、混合した後、37℃にて12時間振とうした。さらに、280 $\mu$ M プチルヒドロキシトルエン溶液10 $\mu$ l 及び28mMエチレンジアミン四酢酸・2ナトリウム溶液10 $\mu$ l を添加、混合した後、この反応液 100 $\mu$ l に、0.67%チオバルビツール酸 1ml 及び20%トリクロロ酢酸 0.5ml を添加し、100℃にて20分間保持した後、冷却し、4,000rpmで5分間の遠心分離を行って上清を回収し、532nmの吸光度を測定した。この吸光度と標準として用いた1, 1, 3, 3-テトラエオキシプロパン(0~16 $\mu$ M)の吸光度から、血漿リポタンパク質画分の過酸化脂質量をマロンジアルデヒドとして算出した。表6に各群の血漿リポタンパク質画分の過酸化脂質量の平均値を示す。

## 【0050】

## 【表6】

【0051】これらの試験結果から、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)の培養上清及びラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)培養上清は、共に赤血球のグルタチオンペルオキシダーゼ活性、赤血球のカタラーゼ活性、肝臓のカタラーゼ活性及び赤血球のスーパーオキシド・ディスムターゼ活性を活性化することが判った。また、血漿リポタンパク質画分の過酸化脂質量も有意に低下したことから、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)の培養上清またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)培養上清は、生体内の過酸化脂質抑制作用を有することが判った。

## 【0052】

【実施例1】常法に従い、本発明のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤を含有する顆粒剤を製造した。

【0053】参考例1または2で得られた培養上清粉末380gに、乳糖883g及びコーンスターチ221gを加えた後、V型混合機で混合し、混合粉末を得た。この混合粉末とヒドロキシプロピルセルロース 16gに滅菌精製水 150mlを加えて攪拌、溶解した溶液を共に双軸練合機で練合し、押し出し造粒機で造粒した後、通気乾燥機で60℃、50分間乾燥することにより整粒し、顆粒状のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤1,480gを製造した。

## 【0054】

【実施例2】常法に従い、本発明のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤を配合した清涼飲料を製造した。

【0055】参考例1または2で得られた培養上清粉末5kg、リンゴ冷凍濃縮果汁20kg、グラニュー糖92kg、リンゴ酸 2.5kg、クエン酸 0.5kg、アップルアロマ3kg、エッセンス1kgに水 900kgを加えて混合、溶解した後、プレート式殺菌機で95℃、5秒間殺菌してグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤を配合した清涼飲料 1,000kgを製造した。

## 【0056】

20 【発明の効果】本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)またはラクトバチルス・アシドフィルス(*Lactobacillus acidophilus*)の培養上清を有効成分とするグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤は、生体内の過酸化水素を効果的に消去することができる酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼを活性化し、生体内の過酸化脂質抑制作用を有するので、過酸化脂質の生成及び蓄積に起因する老化、腫瘍、循環器系疾患、各種肝疾患などを予防する効果が期待される。

30 【0057】また、本発明のグルタチオンペルオキシダーゼ活性化剤は、過酸化水素抑制効果があると考えられるカタラーゼ及びスーパーオキシド・ディスムターゼを活性化するので、これらの酵素とグルタチオンペルオキシダーゼの相乗効果による過酸化脂質の抑制作用も期待できる。

フロントページの続き

(51)Int. Cl. 6

// C12N 1/20

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

E 8828-4B

8828-4B

(C12N 1/20

C12R 1:23

1:01)